Iranian Journal of Animal Science Research
Homepage: http://ijasr.um.ac.ir

Research Article
Vol. 17, No.2, 2025, p. 125-139

The Effect of Adding Different Levels of Wheat Straw to *Paulownia* (*Paulownia* sp.) Leaf Silage on the Chemical Composition and *in vitro* Fermentation Indices

Ayoub Azizi[1], Alireza Jolazadeh[2*], Afrooz Sharifi[3], Saeid Heidari[4]

1- Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Lorestan University, Khorramabad, Iran
2- Animal Science Research Department, Safiabad Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Agricultural Research, Education and Extention (AREEO), Dezful, Iran
3- Animal Science Research Department, Khuzestan Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Agricultural Research, Education and Extention (AREEO), Ahvaz, Iran
4- Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture, Lorestan University, Khorramabad, Iran
*Corresponding Author's Email: a.jolazadeh@ut.ac.ir

Received: 19-02-2025 Revised: 13-04-2025 Accepted: 13-04-2025 Available Online: 13-04-2025	**How to cite this article:** Azizi, A., Jolazadeh, A., Sharifi, A., & Heidari, S. (2025). The effect of adding different levels of wheat straw to paulownia (*Paulownia* sp.) leaf silage on the chemical composition and *in vitro* fermentation indices. *Iranian Journal of Animal Science Research*, *17*(2), 125-139. (in Persian with English abstract) http://doi.org/10.22067/ijasr.2025.92248.1238

Introduction: The lack of water resources and the high water requirements of common forage plants have created significant limitations in the production of good quality forage in the country. Therefore, it is very important to identify and properly use new forage sources for inclusion in ruminant nutrition. A new fodder source must not only be fast-growing and resistant to hot and drought conditions, but also have acceptable nutritional value. Plants of the *Paulowniaceae* family in China and East Asia are a notable source of fodder in this regard. Several types of *Paulownia* are known in the world. These plants are known for their high growth rate and intense photosynthesis, which are specific to C_4 plants, and with wide leaves with a diameter of about 90 cm. The commercial production of *Paulownia* wood produces a large mass of leaves, which are usually used as natural fertilizers. At the age of about 6 to 8 years, the leaf production of each Paulownia tree reaches about 100 kg. When the leaves have a favorable nutritional value, they can be used as fodder in feeding ruminants. In Iran, about 20 million tons of wheat straw (WS) are produced annually, a large part of which is used as the main source of animal feed. However, the nutritional value of these by-products is very low. Wheat straw is deficient in crude protein (CP), mineral elements, and digestible energy, and has low palatability. Considering the large amount of WS produced in the country, and in order to optimize the dry matter (DM) content of silage and prevent wastes from it, it seems that silage with appropriate characteristics and nutritional value can be produced using a mixture of fresh *Paulownia* leaves (PL) and WS. Therefore, the purpose of the present study was to determine the nutritional value of PL and then to investigate the effects of adding different levels of WS to PL silage on chemical composition, gas production parameters, digestibility and fermentation parameters *in vitro*.

http://doi.org/10.22067/ijasr.2025.92248.1238

Material and Methods: Paulownia leaves (Tebjoo hybrid variety) and wheat straw (WS) were first collected and analyzed for their chemical composition using standard methods. Subsequently, both forages were chopped into 2–4 cm pieces using a hand chopper to prepare them for silage. Experimental treatments included adding WS at levels 0 (PL silage only), 6, 12, 18, and 24% to PL on DM basis. The materials were compacted in the plastic containers and the silage period lasted two months. Determination of chemical composition of fresh fodders and the nutritional value of experimental silages including chemical composition, *in vitro* gas production and fermentation parameters, digestibility and enzyme activity were carried out.

Results and Discussion: Results showed that DM, organic matter (OM), CP, neutral detergent fiber (NDF), acid detergent fiber (ADF), ether extract (EE), lignin and non-fibrer carbohydrates (NFC) content of fresh PL were 266, 911, 173, 402, 201, 35.5, 75.5 and 301 g/kg DM, respectively. The mentioned chemical composition in PL silage were 273, 896, 168, 394, 191, 36.8, 74.6 and 297 g/kg DM, respectively. With increasing the level of WS in PL silage content of DM, NDF, ADF, lignin and pH increased linearly (P<0.05), although CP and NFC content and ammonia-N concentration of silage decreased linearly (P<0.05). The OM and ether extract content of the experimental silages were not affected (P<0.05). With increasing the level of WS in PL silage, gas production at all investigated times, gas production potential (coefficient b), short-chain volatile fatty acids, DM and OM digestibility, estimated metabolizable energy, ammonia-N and microbial protein synthesis decreased linearly (P<0.05), but the gas production rate (coefficient c) was not affected (P<0.05). With increasing WS to PL silage, the activities of carboxymethyl cellulase, filter paper degradation activity, alpha-amylase and protease activity the culture medium decreased linearly (P<0.05), although microcrystalline cellulase enzymes activity was not affected (P<0.05).

Conclusion: The current study indicated that fresh or ensiled *Paulownia* leaves (Tebjoo hybrid variety) has a significant nutritional value as a new forage source for use in ruminant nutrition. Moreover, adding different levels of wheat straw to paulownia leaf silage is recommended as a method of enrichment and improving the palatability and nutritional value of wheat straw.

Keywords: Fermentation, Gas production, Nutritive value, *Paulownia* leaf, Ruminants

نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
Homepage: http://ijasr.um.ac.ir

مقاله پژوهشی
جلد ۱۷، شماره ۲، تابستان ۱۴۰۴، ص. ۱۳۹-۱۲۵

تأثیر افزودن سطوح مختلف کاه گندم به سیلاژ برگ پالونیا (*Paulownia* sp.) بر ترکیب شیمیایی و شاخص‌های تخمیر برون‌تنی

ایوب عزیزی[۱]، علیرضا جولازاده[۲*]، افروز شریفی[۳]، سعید حیدری[۴]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۱۲/۰۱
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۱/۲۴

چکیده

هدف از انجام مطالعه حاضر، تعیین ارزش غذایی برگ پالونیا (*Paulownia* sp.) و بررسی اثرات افزودن سطوح مختلف کاه گندم به سیلاژ برگ پالونیا بر ترکیب شیمیایی، تولید گاز، هضم‌پذیری و فراسنجه‌های تخمیر برون‌تنی در شرایط آزمایشگاهی بود. خانواده پالونیا مختص به گیاهان $C_۴$ بوده، دارای سرعت رشد و فتوسنتز زیاد هستند و قطر برگ‌های آن‌ها به حدود ۹۰ سانتی‌متر می‌رسد. تیمارهای آزمایشی شامل افـزودن سـطوح صـفر (فقـط سیلاژ برگ پالونیا)، ۶، ۱۲، ۱۸ و ۲۴ درصد کاه گندم به سیلاژ برگ پالونیا براساس ماده خشک بود. نتایج نشان داد که محتوای ماده خشک، ماده آلـی، پروتئین خام، الیاف نامحلول در شوینده خنثی، الیاف نامحلول در شوینده اسیدی، عصاره اتری، لیگنین و کربوهیدارت‌های غیرفیبری برگ پالونیـای تـازه به‌ترتیب برابر ۲۶۶، ۹۱۱، ۱۷۳، ۴۰۲، ۲۰۱، ۳۵/۵، ۷۵/۵ و ۳۰۱ گرم در کیلوگرم ماده خشک بود. این ترکیبات در سیلاژ برگ پالونیا به‌ترتیب برابر ۲۷۳، ۸۹۶، ۱۶۸، ۳۹۴، ۱۹۱، ۳۶/۸، ۷۴/۶ و ۲۹۷ گرم در کیلوگرم ماده خشک به دست آمد. با افزایش سطح کاه گندم به سـیلاژ بـرگ پالونیـا، میـزان مـاده خشک، الیاف نامحلول در شوینده خنثی، الیاف نامحلول در شوینده اسیدی، لیگنین و pH به‌طور خطی افزایش یافت ($P<۰/۰۵$)، هرچند میزان پـروتئین خام، کربوهیدارت‌های غیرفیبری و غلظت نیتروژن آمونیاکی سیلاژ به‌طور خطی کاهش یافت ($P<۰/۰۵$). محتوای ماده آلی و عصاره اتری سـیلاژهای آزمایشی تحت تأثیر قرار نگرفت ($P>۰/۰۵$). با افزایش سطح کاه گندم در سیلاژ برگ پالونیا، تولید گاز در همه زمان‌های مورد بررسی، پتانسیل تولید گاز (ضریب b)، غلظت اسیدهای چرب فرار کوتاه‌زنجیر، گوارش‌پذیری ماده خشک و ماده آلی، تخمین انرژی قابل متابولیسم، غلظـت نیتـروژن آمونیـاکی و سنتز پروتئین میکروبی به‌طور خطی کاهش یافت ($P<۰/۰۵$)، امّا نرخ تولید گاز (ضریب c) تحت تأثیر قرار نگرفت ($P>۰/۰۵$). با افزایش نسبت کاه بـه برگ پالونیا در سیلاژ، فعالیت آنزیم‌های کربوکسی متیل سلولاز، فعالیت تجزیه کاغذ صافی، آلفا آمیلاز و فعالیت پروتئازی محـیط کشـت بـه‌طور خطـی کاهش یافت ($P<۰/۰۵$)، هرچند فعالیت آنزیم میکروکریستالین سلولاز تحت تأثیر قرار نگرفت ($P>۰/۰۵$). در کل، نتایج پژوهش حاضـر نشـان داد کـه برگ پالونیای تازه یا سیلوشده دارای ارزش غذایی قابل توجهی به‌عنوان یک منبع علوفه‌ای جدید جهت کاربرد در تغذیه نشخوارکنندگان است. همچنین، امکان تولید سیلاژهای آزمایشی با مخلوط کردن سطوح مختلف کاه گندم تا سطح ۲۴ درصد ماده خشک در مخلـوط سـیلاژ وجـود دارد و سـیلاژهای حاصله دارای ارزش غذایی قابل قبولی هستند.

واژه‌های کلیدی: ارزش غذایی، برگ پالونیا، تخمیر، تولید گاز، نشخوارکنندگان

۱- گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه لرستان، خرم‌آباد، ایران
۲- بخش علوم دامی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی صفی‌آباد، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، دزفول، ایران
۳- بخش تحقیقات علوم دامی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، اهواز، ایران
۴- گروه تولیدات گیاهی و ژنتیک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه لرستان، خرم‌آباد، ایران
(*- نویسنده مسئول: (Email: a.jolazadeh@ut.ac.ir
http://doi.org/10.22067/ijasr.2025.92248.1238

مقدمه

کمبود منابع آبی و زیاد بودن نیاز آبی عمده گیاهان علوفه‌ای رایج سبب ایجاد محدودیت‌های قابل توجهی در تولید علوفه با کیفیت مناسب در کشور شده است. عوامل دیگری از قبیل نوع ارقام مورد استفاده، مدیریت کاشت، داشت و برداشت علوفه و مدیریت نگهداری آن نیز سبب کاهش سطح و کیفیت علوفه تولیدی شده است. لذا، شناسایی و کاربرد صحیح منابع علوفه‌ای جدید جهت گنجاندن در تغذیه نشخوارکنندگان اهمیت بسیاری دارد (Huang *et al.*, 2021). یک منبع علوفه‌ای جدید باید علاوه‌بر قابلیت رشد سریع و مقاوم بودن در برابر شرایط گرم و خشکسالی، ارزش غذایی قابل قبولی نیز داشته باشد (Huang *et al.*, 2021). گیاهان خانواده پالونیای (*Paulowniaceae*) چینی و آسیای شرقی یکی از منابع علوفه‌ای مورد توجه در این زمینه هستند (Garcia-Morote *et al.*, 2014). مهم‌ترین گونه‌های پالونیا شامل گونه آلبیفلوا (*P. albiphloea*)، آسترالیس (*P. australis*)، الونگاتا (*P. elongata*)، فارگسی (*P. fargesii*)، فوتونئی (*P. fortunei*)، کاتالپیفولیا (*P. catalpifolia*)، کاواکامی (*P. kawakamii*) و تومنتوسا (*P. tomentosa*) می‌باشد (Yadav *et al.*, 2013; Bodnar *et al.*, 2014). گیاهان مذکور دارای سرعت رشد بالا و فتوسنتز شدید هستند(که مختص گیاهان C_4 بوده، و دارای برگ‌های پهن با قطر حدود ۹۰ سانتی‌متر هستند (Icka *et al.*, 2016). کاربرد تنه درخت پالونیا در صنایع چوب می‌باشد، بنابراین تولید تجاری چوب آن، تولید توده بسیار زیادی از برگ را به همراه دارد. میزان برگ تولیدی سالانه هر درخت پالونیای شش تا هشت ساله حدود ۱۰۰ کیلوگرم است. برگ‌ها زمانی‌که ارزش غذایی مطلوبی دارند، قابل چیدن هستند و ارزش غذایی مناسبی برای استفاده در تغذیه دام دارند. میزان ماده خشک، ماده آلی، پروتئین خام، عصاره اتری، الیاف نامحلول در شوینده خنثی[1]، الیاف نامحلول در شوینده اسیدی[2]، کربوهیدرات‌های غیرفیبری[3] و نشاسته برگ پالونیا اخیراً در پژوهشی به‌ترتیب، ۲۷۵، ۸۸۶، ۱۷۵، ۲۴/۴، ۳۴۱، ۲۹۵، ۳۴۵ و ۱۹/۶ گرم در کیلوگرم ماده خشک گزارش شد و محتوای انرژی خام آن ۱۴/۲ مگاژول در کیلوگرم ماده خشک به دست آمده است (Huang *et al.*, 2021). از طرفی، به‌دلیل وجود ترکیبات فنولی از جمله اسیدهای فنولی، ساپونین و فلاونوئید در برگ پالونیا، استفاده از آن در تغذیه نشخوارکنندگان ممکن است سبب بهینه کردن تخمیر شکمبه و ایجاد اثرات مطلوبی بر متابولیسم نیتروژن در شکمبه گردد (Huang *et al.*, 2021; Özelçam *et al.*, 2012).

در ایران، سالانه حجم زیادی کاه غلات تولید می‌شود. به‌ازای تولید هر کیلوگرم دانه غله حدود ۱ تا ۱/۳ کیلوگرم کاه تولید می‌شود. لذا انتظار بر این است که سالانه حدود ۲۰ میلیون تن کاه در کشور تولید شود. بخش زیادی از کاه غلات و بقایای زراعی به‌عنوان اصلی‌ترین منبع خوراک دام در بسیاری از کشورهای جهان از جمله ایران مورد استفاده قرار می‌گیرد، امّا ارزش غذایی این مواد خوراکی بسیار کم است (Arora *et al.*, 1994). مواد مذکور از نظر پروتئین خام، عناصر معدنی و انرژی قابل هضم کمبود داشته و خوش‌خوراکی کمی نیز دارند. غنی‌سازی کاه غلات به روش‌های مختلف یا انجام فرآوری‌های مختلف روی این توده لیگنوسلولزی، ارزش غذایی آن را در مطالعات مختلفی بهبود داده است. با توجه به حجم زیاد کاه غلات تولیدی در کشور، و به‌منظور بهینه کردن مصرف کاه و محتوای ماده خشک سیلاژ و جلوگیری از هدرروی پساب حاصل از آن، به نظر می‌رسد که می‌توان با استفاده از مخلوطی از برگ‌های تازه پالونیا و کاه گندم، سیلاژی با خصوصیات و ارزش غذایی مناسب تهیه و تولید کرد و از این طریق، با تولید یک سیلاژ جدید، بخشی از کمبودهای خوراک دام به‌ویژه در مزارع کوچک دامپروری را تا حدودی رفع کرد. پرورش درخت پالونیا و به‌ویژه واریته‌های اصلاح‌شده و هیبرید آن در بسیاری از مناطق ایران به جهت زراعت چوب در حال توسعه است. لذا در حوزه تغذیه دام، می‌توان به برگ‌های پالونیا به دید ارزش افزوده نگاه کرد و از آن در تغذیه نشخوارکنندگان استفاده نمود. متأسفانه راجع به سطح زیر کشت پالونیا در کشور اطلاعات دقیقی وجود ندارد، امّا کشت این درخت در کشور به‌طور قابل توجهی در حال افزایش است. پراکنش پالونیا در ایران بیشتر در استان‌های فارس، اصفهان، مازندران، گیلان، گلستان و خراسان شمالی می‌باشد. تاکنون اکثر تحقیقات صورت گرفته روی برگ پالونیا روی دام، راجع به تغذیه برگ خشک یا سیلاژ آن بوده است. اخیراً در پژوهشی محتوای ماده خشک، ماده آلی، پروتئین خام، الیاف نامحلول در شوینده خنثی، الیاف نامحلول در شوینده اسیدی، عصاره اتری، لیگنین، کربوهیدرات‌های غیرفیبری و کربوهیدرات‌های محلول در سیلاژ برگ پالونیا به‌ترتیب برابر ۲۷۳، ۹۰۲، ۱۶۴، ۳۹۳، ۱۹۱، ۳۸/۸، ۷۴/۵، ۳۸۶ و ۲۵/۴ گرم در کیلوگرم ماده خشک به دست آمد (Azizi, 2024). نتایج تحقیق مذکور نشان داد که سیلو کردن سطوح مختلف برگ پالونیا با ذرت علوفه‌ای تا سطح کامل جایگزینی به‌عنوان یک روش نگهداری مطلوب، سبب بهبود محتوای نیتروژن و کربوهیدرات‌های غیرفیبری مخلوط سیلاژ حاصله گردید (Azizi, 2024). در تحقیق دیگری افزودن ۶ درصد سیلاژ پالونیا به‌جای سیلاژ یونجه در جیره گاو شیری سبب افزایش غلظت نیتروژن آمونیاکی و پروپیونات و کاهش غلظت استات شکمبه شد، هرچند گوارش‌پذیری عمده مواد مغذی (شامل ماده خشک، ماده آلی و الیاف نامحلول در شوینده خنثی) تحت تأثیر

1- Neutral Detergent Fiber (NDF)
2- Acid Detergent Fiber (ADF)
3- Non-Fiber Carbohydrates (NFC)

قرار نگرفت (Huang *et al.*, 2022). در ایران تاکنون تحقیقات اندکی روی بررسی ارزش غذایی برگ پالونیای اصلاح شده یا سیلاژ آن جهت استفاده در تغذیه دام صورت گرفته است. لذا هدف از پژوهش حاضر، بررسی ترکیب شیمیایی برگ پالونیا و سپس بررسی ارزش غذایی، فراسنجه‌های تولید گاز، گوارش‌پذیری و تخمیر سیلاژ حاصل از مخلوط سطوح مختلف برگ پالونیای اصلاح شده رقم "طب جو" با کاه گندم در شرایط آزمایشگاهی بود.

مواد و روش‌ها

تهیه برگ پالونیا و تولید سیلاژهای آزمایشی

برگ پالونیای اصلاح شده رقم هیبرید طب جو (شرکت طب جویان، شیراز، استان فارس) از یک مزرعه پرورش پالونیای ۳-۲ ساله در اطراف شهر خرم‌آباد جمع‌آوری گردید. برگ‌ها به‌صورت دستی از ۲۵ درخت به‌طور تصادفی برداشت و مخلوط شد. در شکل ۱ نمایی از درخت پالونیا نشان داده شده است.



شکل ۱- نمایی از درخت پالونیا

Figure 1- A view of a *Paulownia* tree

برداشت برگ از درختان در انتهای ماه خرداد بود و برگ‌ها به‌صورت دستی از قسمت‌های پایین هر درخت برداشت شد. در ابتدا، براساس روش‌های مرسوم اقدام به تعیین ترکیب شیمیایی نمونه‌های کاه گندم و برگ پالونیای تازه شد (۵ تکرار به‌ازای هر علوفه). قبل از سیلو کردن برگ‌های جمع‌آوری شده پالونیا توسط دستگاه چاپر دستی آشپزخانه در اندازه‌های ۴-۲ سانتی‌متری خرد شد و از هر علوفه (کاه گندم یا برگ پالونیای خرد شده) به‌مقدار مورد نیاز برای تهیه مخلوط سیلاژهای آزمایشی نمونه‌برداری شد. سپس عملیات سیلو کردن مخلوطی از این دو علوفه به نسبت‌های مختلف صورت گرفت. تیمارهای آزمایشی شامل افزودن کاه گندم به سیلاژ برگ پالونیا به‌ترتیب با سطوح صفر (فقط سیلاژ برگ پالونیا)، ۶، ۱۲، ۱۸ و ۲۴ درصد ماده خشک بود. نحوه تهیه سیلاژهای آزمایشی به این صورت بود که هر سیلاژ در ۸ تکرار (در کل ۴۰ ظرف پلاستیکی) در ظرف‌های پلاستیکی با ظرفیت ۵ کیلوگرم قرار داده شد و پس از فشردن و خارج نمودن هوا توسط جارو برقی، از بی‌هوازی بودن آن‌ها اطمینان حاصل گردید. سپس، درب ظرف‌ها بسته شد و به‌مدت دو ماه در فصل تابستان عملیات سیلو کردن نمونه‌ها انجام شد. ظرف‌های حاوی مواد سیلویی حاوی روزنه‌ای جهت خروج شیرابه بودند. شیرابه به‌میزان بسیار کمی از سیلاژ فقط پالونیا خارج شد و با افزایش میزان کاه در مخلوط سیلاژ، میزان خروج شیرابه به‌طور قابل توجهی کاهش یافت. پس از طی این مدت، درب ظرف‌ها باز شد و ترکیب شیمیایی سیلاژها تعیین شد. میزان pH نمونه‌ها بلافاصله اندازه‌گیری شد. برای تعیین pH، ۵۰ گرم نمونه سیلاژ در یک بشر ۵۰۰ میلی‌لیتری توزین شد و به آن ۱۲۵ میلی‌لیتر آب مقطر افزوده شد. نمونه‌ها طی یک ساعت به‌طور متناوب با هم مخلوط شد. پس از انتقال عصاره حاصله به یک بشر کوچک‌تر، میزان pH آن با استفاده از pHمتر (مدل 744؛ شرکت Metrohm سوئیس) تعیین گردید (Faithfull, 2000).

تجزیه شیمیایی نمونه‌ها

قبل از تجزیه، ابتدا نمونه‌های علوفه و سیلاژ حاصل از آن‌ها در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد در آون برای رسیدن به وزن ثابت، خشک شدند. سپس با استفاده از آسیاب مجهز به الک با قطر منافذ یک میلی‌متری آسیاب شدند. میزان ماده خشک، خاکستر خام، ماده آلی، پروتئین خام و عصاره اتری در نمونه‌های علوفه تازه و سیلاژ براساس روش‌های AOAC (۲۰۰۲) تعیین شد. میزان الیاف نامحلول در شوینده اسیدی و لیگنین توسط روش ون‌سوست و همکاران (Van Soest *et al.*, 1991) محاسبه شد. برای تعیین میزان الیاف نامحلول در شوینده خنثی، از روش مرتنز و همکاران (Mertens *et al.*, 2002) استفاده شد. برای تعیین میزان الیاف نامحلول در شوینده اسیدی نمونه‌ها از دستگاه فایبرتک (Fibertec System M, Tecator, 1020 Hot Extraction, Flawil, Switzerland) و بدون استفاده از سدیم سولفیت و آنزیم آلفا امیلاز مقاوم به حرارت استفاده شد. محتوای NFC نمونه‌ها با استفاده از فرمول زیر تخمین زده شد (McDonald *et al.*, 2011):

NFC (%) = 100 – [NDF %) + CP (%) + EE (%) + Ash (%)]

که در آن، NFC درصد کربوهیدرات‌های غیر ساختمانی، NDF درصد الیاف نامحلول در شوینده خنثی، CP درصد پروتئین خام، EE درصد عصاره اتری و Ash درصد خاکستر خام است. میزان نیتروژن آمونیاکی نمونه‌ها با استفاده از معرف‌های فنول و هیپوکلریت اندازه‌گیری شد (Broderick and Kang, 1980).

تولید گاز آزمایشگاهی

به‌منظور انجام آزمون تولید گاز برون‌تنی، مایع شکمبه از سه رأس گوسفند نژاد لری-بختیاری بالغ که حداقل به‌مدت دو هفته با جیره غذایی حاوی ۶۰ درصد علوفه و ۴۰ درصد کنسانتره تغذیه شدند، قبل از تغذیه صبحگاهی از طریق لوله مری تهیه شد. جیره آزمایشی دام‌ها حاوی ۳۰ درصد کاه گندم، ۱۵ درصد سیلاژ ذرت، ۱۵ درصد یونجه خشک، ۱۸/۵ درصد بلغور ذرت، ۲۰ درصد سبوس گندم، ۰/۵ درصد اوره، ۰/۵ درصد کلسیم کربنات، ۰/۲۵ درصد مواد معدنی و ویتامینه و ۰/۲۵ درصد نمک برحسب ماده خشک بود که براساس جداول احتیاجات تغذیه‌ای نشخوارکنندگان کوچک فرموله شده بود (NRC, 2007). گوسفندان روزانه دو بار و در حد احتیاجات نگهداری تغذیه شدند. محتوای پروتئین خام و انرژی قابل متابولیسم جیره تغذیه‌شده به گوسفندان به‌ترتیب ۱۱/۸ درصد و ۲/۳۳ مگاکالری در کیلوگرم ماده خشک بود. محتویات شکمبه هر سه رأس گوسفند در هر مرحله در یک فلاسک عایق که از قبل توسط گاز دی‌اکسید کربن بی‌هوازی شده بود، در دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد به‌طور کامل مخلوط شد و بلافاصله در کمتر از ۲۰ دقیقه به آزمایشگاه انتقال داده شد. محتویات شکمبه قبل از تزریق به داخل ویال‌های آزمایشی، توسط چهار لایه پارچه متقال صاف شد. به‌طور همزمان دو آزمون تولید گاز و در سه سری (Run) مجزا صورت گرفت. در آزمون اول، ابتدا میزان ۲۵۰ میلی‌گرم نمونه سیلاژ کاملاً خشک آسیاب شده و با اندازه ذرات یک میلی‌متر به داخل هر ویال ۱۰۰ میلی‌لیتری برای تعیین پارامترهای آزمون تولید گاز قرار داده شد (شش تکرار به‌ازای هر تیمار در هر سری؛ ۳۰ ویال آزمایشی در هر سری به‌علاوه سه ویال بلانک، در مجموع ۳۳ ویال در هر سری، و در کل ۹۹ ویال در هر سه سری برای آزمایش تولید گاز). سپس، هر ویال که از قبل دمای آن با قرار دادن در بن‌ماری به دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد رسیده بود، با پنج میلی‌لیتر مایع شکمبه صاف شده و ۲۰ میلی‌لیتر بزاق مصنوعی تلقیح شد (Marten and Barnes, 1980). جهت حصول اطمینان از ایجاد شرایط بی‌هوازی، گاز دی‌اکسید کربن به شیرابه شکمبه صاف‌شده و بزاق مصنوعی قبل و پس از تزریق به داخل ویال‌ها نیز تزریق گردید. میزان سه ویال نیز به‌عنوان بلانک (حاوی فقط مایع شکمبه و بزاق مصنوعی) در نظر گرفته شد. سپس درب ویال‌ها بسته شد و در بن‌ماری با دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند. میزان گاز تولیدی هر ویال توسط دستگاه فشارسنج دیجیتال (Tracker 200, Baley and Mackey, Ltd., Birmingham, UK) در زمان‌های ۲، ۴، ۶، ۸، ۱۲، ۱۶، ۲۴، ۴۸، ۷۲، ۹۶ و ۱۲۰ ساعت پس از انکوباسیون اندازه‌گیری شد. اعداد فشار گاز تعیین‌شده با استفاده از قانون گاز ایده‌آل و قانون آووگادرو و براساس معادله ۱ به مول گاز تولیدی تبدیل شد (ANKOM, 2018).

n = P(V/RT) معادله (۱)

که در آن، n: میزان گاز تولیدی به مول، P: فشار گاز به psi، V: حجم گاز تولیدی به میلی‌لیتر، R: ثابت گاز و برابر ۸/۱۳۴۵ کیلوپاسکال به کیلومول و T: دما به‌صورت کلوین می‌باشد. سپس مول گاز تولیدی با استفاده از قانون آووگادرو تبدیل براساس معادله ۲ به حجم گاز تولیدی (میلی‌لیتر) شد.

Gas volume (ml) = n × 22.4 L × 1000 معادله (۲)

برای تعیین پارامترهای تولید گاز از معادله ۳ استفاده گردید (Blümmel *et al.*, 2003).

$P = b(1 – e^{-ct})$ معادله (۳)

که در آن، b: گاز تولیدی از بخش تخمیرپذیر (میلی‌لیتر)، c: سرعت تولید گاز در ساعت، t: زمان انکوباسیون برحسب ساعت و P: میزان گاز تولیدی (میلی‌لیتر) در زمان مورد نظر می‌باشد.

آزمون دوم تولید گاز با هفت تکرار به‌ازای هر تیمار و سه سری (هفت تکرار به‌ازای هر تیمار در هر سری؛ ۳۵ ویال آزمایشی در هر سری به‌علاوه سه ویال بلانک، در مجموع ۳۸ ویال در هر سری، و

در کل ۱۱۴ ویال در هر سه سری) برای تعیین فراسنجه‌های هضم و تخمیر برون‌تنی طراحی گردید. صفات مورد بررسی در این بخش از آزمایش شامل گوارش‌پذیری شکمبه‌ای ماده خشک و ماده آلی، تخمین انرژی قابل متابولیسم جیره‌های آزمایشی و نیز فراسنجه‌های تخمیر شامل pH، نیتروژن آمونیاکی، سنتز پروتئین میکروبی، اسیدهای چرب فرار کوتاه‌زنجیر و فعالیت آنزیمی شکمبه بود. پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون (Vercoe *et al.*, 2010)، ابتدا میزان گاز تولیدی هر ویال ثبت گردید، سپس pH بوسیله pHمتر (مدل 744؛ شرکت Metrohm سوئیس) قرائت شد. محتوای هر ویال با دور ۲۰۰۰g بمدت ۲۰ دقیقه در دمای چهار درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ گردید. بقایای هر ویال جمع‌آوری و خشک شده و میزان گوارش‌پذیری شکمبه‌ای ماده خشک از اختلاف وزن سوبسترای اولیه و وزن بقایا پس از انکوباسیون محاسبه گردید. جهت تعیین میزان نیتروژن آمونیاکی، نمونه‌های سوپرناتانت (پنج میلی‌لیتر) سریعاً با یک میلی‌لیتر اسید کلریدریک ۰/۲ نرمال مخلوط شده و در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. میزان گوارش‌پذیری ماده آلی و انرژی قابل متابولیسم سیلاژهای آزمایشی به‌ترتیب براساس معادله‌های زیر تخمین زده شد (Menke and Steingass, 1988):

معادله (۴)
$$IVOMD\ (g/kg\ OM) = 148.8 + 8.89\ XA.GAS + 4.50\ CP + 651$$

معادله (۵)
$$ME\ (MJ/kg\ DM) = 2.2 + 0.136GP + 0.0157CP + 0.00002859CP^2$$

که در آن‌ها، IVOMD: میزان گوارش‌پذیری ماده آلی، GAS: میزان گاز خالص تولیدی برای ۲۰۰ میلی‌گرم سوبسترا پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون (Menke and Steingass, 1988)، CP: میزان پروتئین خام به‌صورت گرم در ۱۰۰ گرم ماده خشک، XA: خاکستر به‌صورت گرم در ۱۰۰ گرم ماده خشک و ME: انرژی قابل متابولیسم می‌باشد.

تولید پروتئین میکروبی (MPS) به‌صورت معادله ۶ محاسبه گردید (Blümmel *et al.*, 1997):

معادله (۶)
$$MPS\ (mg/g\ DM) = mg\ ADS - (ml\ gas \times 2.2\ mg/ml)$$

که در آن، ADS: سوبسترای هضم‌شده ظاهری پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون، ml gas: حجم گاز تولیدی پس از انکوباسیون ۲۴ ساعته و ۲/۲: عامل استوکیومتری برحسب میلی‌گرم کربن، هیدروژن و اکسیژن مورد نیاز برای سنتز اسیدهای چرب کوتاه زنجیر است.

غلظت اسیدهای چرب کوتاه زنجیر با استفاده از معادله ۷ محاسبه شد (Getachew *et al.*, 2002):

معادله (۷)
$$SCFA\ (mmol/200\ mg\ DM) = 0.0222GP - 0.0042$$

که در آن، SCFA: اسیدهای چرب فرار کوتاه‌زنجیر تولیدی و GP: حجم گاز تولیدی در زمان ۲۴ ساعت انکوباسیون می‌باشد.

تعیین فعالیت آنزیم‌های هیدرولتیک میکروبی شکمبه

فعالیت آنزیم‌های میکروبی شکمبه شامل کربوکسی متیل سلولاز، میکروکریستالین سلولاز، فعالیت تجزیه کاغذ صافی، آلفا آمیلاز و پروتئاز موجود در بخش میکروب‌های چسبیده به ذرات خوراکی (پلت‌های جمع‌آوری‌شده) براساس روش آگاروال (Agarwal, 2000) تخمین زده شد. روش کار به این صورت بود که پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون، ابتدا محتوای هر ویال (چهار ویال به‌ازای هر سیلاژ آزمایشی) به‌مدت ۲۰ دقیقه و با دور ۵۰۰۰×g سانتریفیوژ گردید و بقایا جمع‌آوری گردید. سپس بقایا با تتراکلرید کربن و آنزیم لیزوزیم فرآیند شده و مخلوط آنزیم‌های مایع شکمبه در بافر فسفات در سانتریفیوژ با دور ۲۷۰۰۰×g در دمای چهار درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۲۰ دقیقه به دست آمد. برای تخمین فعالیت کربوکسی متیل سلولاز، مخلوط واکنش شامل یک میلی‌لیتر بافر فسفات ۰/۱ مولار (با pH برابر با ۶/۸)، ۰/۵ میلی‌لیتر شیرابه شکمبه صاف‌شده و ۰/۵ میلی‌لیتر کربوکسی متیل سلولز یک درصد (به‌عنوان سوبسترا) بوده که در دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد به‌مدت یک ساعت انکوبه گردید. مخلوط واکنش برای آنزیم میکروکریستالین سلولاز که شامل یک میلی‌لیتر بافر فسفات ۰/۱ مولار (با pH برابر با ۶/۸)، یک میلی‌لیتر شیرابه شکمبه صاف‌شده و یک میلی‌لیتر میکروکریستالین سلولز یک درصد (به‌عنوان سوبسترا) بوده که در دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد به‌مدت یک ساعت مورد انکوباسیون قرار گرفت. به‌منظور محاسبه فعالیت کاغذ صافی، مخلوط واکنش شامل یک میلی‌لیتر بافر فسفات ۰/۱ مولار (با pH برابر با ۶/۸)، یک میلی‌لیتر شیرابه شکمبه صاف‌شده و ۰/۵ گرم کاغذ صافی واتمن شماره ۱ (به‌عنوان سوبسترا)، در دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد به‌مدت یک ساعت انکوبه گردید. جهت محاسبه فعالیت آنزیم‌های آلفا آمیلاز، مخلوط واکنش شامل یک میلی‌لیتر بافر فسفات ۰/۱ مولار (با pH برابر با ۶/۸)، ۰/۵ میلی‌لیتر شیرابه شکمبه و ۰/۵ میلی‌لیتر محلول نشاسته یک درصد بود که در دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۳۰ دقیقه انکوبه گردید. در همه آزمون‌های مذکور، واکنش با افزودن سه میلی‌لیتر محلول دی‌نیتروسالیسیلیک اسید متوقف شد. گلوکز آزادشده در اثر فعالیت هر یک از آنزیم‌های مورد آزمون براساس روش میلر (Miller, 1959) تخمین زده شد. فعالیت‌های آنزیمی براساس این فرض که یک واحد آنزیمی، توانایی تولید یک میکرومول گلوکز در هر ساعت در هر میلی‌لیتر را تحت شرایط مخلوط واکنش دارد، محاسبه گردید. برای تعیین فعالیت پروتئازی شکمبه، مخلوط واکنش شامل یک میلی‌لیتر بافر فسفات ۰/۱ مولار (با pH برابر با ۶/۸)، ۰/۲۵ میلی‌لیتر مایع شکمبه صاف‌شده و ۰/۲۵ میلی‌لیتر کازئین (۲/۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) بود که در دمای

۳۹ درجه سانتی‌گراد به‌مدت دو ساعت انکوبه گردید. سپس، مخلوط واکنش با افزودن تری‌کلرو استیک اسید (۲۰۰ میلی‌لیتر در لیتر) متوقف شده و پروتئین براساس روش مربوطه تعیین شد (Lowry *et al.*, 1951).

تجزیه آماری

تجزیه واریانس داده‌های مربوط به ترکیب شیمیایی برگ پالونیای تازه، کاه گندم و سیلاژهای آزمایشی حاصل از آن‌ها با استفاده از رویه GLM و توسط نرم‌افزار(SAS, 2005) در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام گرفت. مدل آماری طرح آزمایشی به‌صورت مدل زیر بود.

$$Y_{ij}= \mu + T_i + e_{ij}$$

که در آن، Y_{ij}، μ، T_i و e_{ij}: به‌ترتیب رکورد مشاهده‌شده، میانگین کل، اثر ثابت تیمار آزمایشی iام و اثر خطای آزمایشی است. میانگین‌های به‌دست‌آمده با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن و در سطح معنی‌داری پنج درصد مقایسه شدند.

تجزیه واریانس سایر داده‌ها شامل تولید گاز، گوارش‌پذیری مواد مغذی، فراسنجه‌های تخمیر و فعالیت آنزیمی سیلاژهای آزمایشی با استفاده از رویه MIXED و توسط نرم‌افزار (SAS, 2005) در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام گرفت. مدل آماری طرح آزمایشی به‌صورت مدل زیر بود.

$$Y_{ijk}= \mu + T_i + Run_j + e_{ijk}$$

که در آن، Y_{ijk}، μ، T_i، Run_j و e_{ijk}: به‌ترتیب رکورد مشاهده‌شده، میانگین کل، اثر ثابت تیمار آزمایشی iام، اثر تصادفی دوره jام و اثر خطای آزمایشی است. میانگین‌های صفات به‌دست‌آمده با استفاده از مقایسه‌های متعامد (خطی و غیرخطی) و در سطح معنی‌داری پنج درصد مقایسه شدند.

نتایج و بحث

ترکیب شیمیایی برگ پالونیا، کاه گندم و سیلاژهای آزمایشی حاصل از آن‌ها

نتایج مربوط به ترکیب شیمیایی برگ پالونیای تازه و کاه گندم در جدول ۱ نشان داده شده است.

جدول ۱- ترکیب شیمیایی برگ پالونیای تازه و کاه گندم (گرم در کیلوگرم ماده خشک)

Table 1- Chemical composition of fresh *Paulownia* leaves and wheat straw (g/kg DM)

صفت Parameter	نوع علوفه Forage type کاه گندم Wheat straw	 برگ پالونیا *Paulownia* leaf	خطای استاندارد میانگین‌ها SEM	احتمال معنی‌داری P-value
ماده خشک Dry matter	925^a	266^b	6.72	<0.01
ماده آلی Organic matter	923	911	6.81	0.26
پروتئین خام Crude protein	33.2^b	173^a	3.20	<0.01
الیاف نامحلول در شوینده خنثی Neutral detergent fiber	737^a	402^b	12.7	<0.01
الیاف نامحلول در شوینده اسیدی Acid detergent fiber	486^a	201^b	12.2	<0.01
لیگنین Lignin	81.5	75.5	2.45	0.13
عصاره اتری Ether extract	16.5^b	35.5^a	1.53	<0.01
کربوهیدرات‌های غیرساختمانی Non-fiber carbohydrates	136^b	301^a	11.5	<0.01

– اعداد با حروف متفاوت در هر ردیف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح پنج درصد می‌باشند.

- Means with different letters in a row differ (P<0.05).

محتوای ماده خشک، الیاف نامحلول در شوینده خنثی و الیاف نامحلول در شوینده اسیدی کاه گندم به‌طور معنی‌داری بیشتر از برگ پالونیا بود (P<۰/۰۵). هرچند، میزان پروتئین خام، عصاره اتری و کربوهیدرات‌های غیرفیبری در برگ پالونیا به‌طور معنی‌داری بیشتر از کاه گندم بود (P<۰/۰۵). در هر دو ماده خوراکی، از نظر محتوای ماده آلی و لیگنین تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (P>۰/۰۵).

نتایج مربوط به ترکیب شیمیایی سیلاژهای آزمایشی مخلوط حاوی نسبت‌های مختلف برگ پالونیا و کاه گندم در جدول ۲ ارائه شده است. با افزایش نسبت کاه گندم در مخلوط سیلاژ تا سطح ۲۴ درصد، میزان ماده خشک، الیاف نامحلول در شوینده خنثی، الیاف نامحلول در شوینده اسیدی، لیگنین و pH به‌طور خطی افزایش یافت (P<۰/۰۵)، این در حالی است که میزان پروتئین خام، کربوهیدرات‌های غیرفیبری و غلظت نیتروژن آمونیاکی سیلاژ به‌طور خطی کاهش یافت (P<۰/۰۵). محتوای ماده آلی و عصاره اتری سیلاژهای آزمایشی تحت تأثیر نسبت کاه گندم و برگ پالونیا قرار نگرفت (P>۰/۰۵). باید عنوان نمود که به‌جز میزان ماده خشک که در سیلاژ برگ پالونیا مقداری از علوفه تازه آن بیشتر بود (جداول ۱ و ۲)، غلظت سایر ترکیبات شیمیایی در هر سیلاژ کمتر از میزان آن در علوفه تازه بود. این افزایش محتوای ماده خشک در سیلاژها در مقایسه با علوفه تازه ممکن است که ناشی از خروج بخشی از رطوبت آن‌ها به‌صورت شیرابه از سیلو بوده باشد.

جدول ۲- ترکیب شیمیایی (گرم در کیلوگرم ماده خشک یا واحد ذکرشده) سیلاژهای حاوی نسبت‌های مختلف برگ پالونیا و کاه گندم

Table 2- Chemical composition (g/kg DM or as stated) of silages containing different proportion of *Paulownia* leaf (PL) and wheat straw (WS)

صفت Parameter	سطح کاه گندم به‌جای سیلاژ پالونیا (درصد ماده خشک) Level of WS instead of PL (% DM) کنترل (فقط پالونیا) Control (only PL)	۶ 6	۱۲ 12	۱۸ 18	۲۴ 24	خطای استاندارد میانگین‌ها SEM	مقایسات متعامد Contrast خطی Linear	غیر خطی Quadratic
ماده خشک Dry matter	273[e]	305[d]	344[c]	384[b]	422[a]	8.34	<0.01	0.74
ماده آلی Organic matter	896	911	913	913	914	5.66	0.09	0.18
پروتئین خام Crude protein	168[a]	161[ab]	154[bc]	147[dc]	141[d]	3.42	<0.01	0.91
الیاف نامحلول در شوینده خنثی Neutral detergent fiber	394[d]	421[c]	441[bc]	463[ab]	479[a]	8.06	<0.01	0.49
الیاف نامحلول در شوینده اسیدی Acid detergent fiber	191[d]	219[c]	237[b]	253[b]	272[a]	5.95	<0.01	0.41
لیگنین Lignin	74.6[c]	77.2[bc]	77.7[bc]	78.5[b]	83.1[a]	1.07	<0.01	0.32
عصاره اتری Ether extract	36.8	35.8	35.5	34.8	34.5	1.22	0.08	0.18
کربوهیدرات‌های غیر ساختمانی Non-fiber carbohydrates	297[a]	293[ab]	282[bc]	269[bc]	260[c]	4.33	<0.01	0.58
pH	3.81[b]	3.94[ab]	4.14[ab]	4.24[ab]	4.68[a]	0.178	0.01	0.56
نیتروژن آمونیاکی (گرم در کیلوگرم کل نیتروژن) Ammonia-N (g/kg total N)	58.3[a]	55.9[ab]	54.1[abc]	53.3[bc]	51.2[c]	1.39	<0.01	0.75

– اعداد با حروف متفاوت در هر ردیف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح پنج درصد می‌باشند.

- Means with different letters in a row differ (P<0.05).

در مقایسه با کاه گندم، میزان پروتئین خام در علوفه و سیلاژ برگ پالونیا به‌طور قابل ملاحظه‌ای بیشتر بود (جداول ۱ و ۲) که این امر نشان‌دهنده ارزش غذایی قابل توجه برگ پالونیا به‌عنوان یک منبع علوفه‌ای جدید در تغذیه نشخوارکنندگان می‌باشد. نشان داده شده است که حداقل پروتئین خام مورد نیاز برای تولید آمونیاک کافی در شکمبه به‌منظور دستیابی به حداکثر رشد میکروبی، باید حدود هشت درصد ماده خشک جیره غذایی باشد (Norton, 1998)، این در حالی است که برخلاف کاه گندم، میزان پروتئین خام در برگ تازه و یا سیلو شده پالونیا (به‌ترتیب ۱۷۳ و ۱۶۸ گرم در کیلوگرم ماده خشک)، نشان‌دهنده مزیت مهم آن در تغذیه دام است. کاهش محتوای پروتئین خام سیلاژ برگ پالونیا در مقایسه با علوفه تازه قابل انتظار بود که این امر ممکن است که ناشی از تجزیه بخشی از پروتئین خام

آن در اثر فعالیت میکروب‌ها و تولید آمونیاک در سیلاژ باشد (McDonald *et al.*, 2011). دامنه پروتئین خام انواع گونه‌های برگ پالونیا ۱۱۳ تا ۲۷۱ گرم در کیلوگرم ماده خشک گزارش شده است (Descals *et al.*, 2013). مشابه با نتایج تحقیق حاضر، در پژوهشی میزان پروتئین خام برگ گونه *پالونیا الونگاتا* ۱۷۲ (Stewart *et al.*, 2018) و در مطالعه دیگری ۱۷۴ گرم در کیلوگرم ماده خشک گزارش شده است (Al-Sagheer *et al.*, 2019). وجود اختلاف در محتوای پروتئین خام گزارش شده توسط محققان احتمالاً به‌دلیل عواملی مانند رقم گیاه، زمان کاشت و برداشت، شرایط جغرافیایی محل کشت، نوع و میزان کاربرد کودهای شیمیایی و مدیریت تهیه سیلاژ می‌باشد (Kaiser *et al.*, 2004). محتوای الیاف نامحلول در شوینده خنثی و الیاف نامحلول در شوینده اسیدی در برگ تازه و سیلاژ پالونیا به‌طور قابل توجهی از کاه گندم کمتر بود که نشان‌دهنده ارزش غذایی قابل توجه پالونیا به‌عنوان یک منبع علوفه‌ای در تغذیه دام است. زیرا نشان داده شده است که مقدار الیاف نامحلول در شوینده خنثی خوراک با میزان مصرف آن رابطه معکوسی دارد (McDonald *et al.*, 2011). میزان الیاف نامحلول در شوینده خنثی سیلاژ برگ پالونیا در مطالعه حاضر بیشتر از مقادیر گزارش‌شده توسط برخی از محققان (۳۵۹ گرم در کیلوگرم ماده خشک) بود (Huang *et al.*, 2022)، امّا مشابه مقدار گزارش‌شده (۴۴۷ گرم در کیلوگرم ماده خشک) توسط استوارت و همکاران (Stewart *et al.*, 2018) بود. در آزمایش دیگری، میزان الیاف نامحلول در شوینده خنثی برگ پالونیا ۴۰۵ گرم در کیلوگرم ماده خشک گزارش شد (Al-Sagheer *et al.*, 2019) که نسبت به نتایج ارائه‌شده در مطالعه حاضر کمتر است. کاهش محتوای الیاف (الیاف نامحلول در شوینده خنثی و الیاف نامحلول در شوینده اسیدی) سیلاژ پالونیا در مقایسه با علوفه تازه آن (جدول ۱ و ۲) مطابق با نتایج سایر تحقیقات است (Rezaei *et al.*, 2009). دلیل این امر احتمالاً تجزیه سلولز و همی‌سلولز در اثر فعالیت میکروب‌ها حین تخمیر و نیز هیدرولیز آن‌ها در pH اسیدی سیلاژ می‌باشد (Rezaei *et al.*, 2009). همان‌طور که قابل انتظار بود، محتوای لیگنین در برگ تازه (۷۵/۵ گرم در کیلوگرم ماده خشک) و سیلاژ پالونیا (۷۴/۶ گرم در کیلوگرم ماده خشک) از کاه گندم (۸۱/۵ گرم در کیلوگرم ماده خشک) کمتر بود که می‌تواند یکی از دلایل ارزش غذایی بیشتر برگ پالونیا نسبت به کاه گندم باشد. همچنین، با افزایش نسبت کاه گندم در سیلاژ تا سطح ۲۴ درصد، غلظت لیگنین به‌تدریج افزایش معنی‌داری یافت که به‌دلیل بیشتر بودن میزان لیگنین کاه گندم می‌باشد. افزایش میزان ماده خشک، الیاف نامحلول در شوینده خنثی، الیاف نامحلول در شوینده اسیدی و لیگنین با افزایش سهم کاه گندم نسبت به برگ پالونیا تا سطح ۲۴ درصد در سیلاژهای مخلوط، احتمالاً به‌دلیل غلظت بیشتر ترکیبات مذکور در کاه گندم بوده است. کاهش محتوای پروتئین خام و کربوهیدرات‌های غیرفیبری با افزایش نسبت کاه گندم در سیلاژ احتمالاً به‌دلیل محتوای کم ترکیبات مذکور در کاه گندم بوده است. کاهش قابل توجه غلظت نیتروژن آمونیاکی سیلاژ با افزایش نسبت کاه گندم تا بیشترین سطح جایگزین (۲۴ درصد) احتمالاً به‌خاطر کاهش میزان پروتئین خام سیلاژها بوده باشد که حین عمل تخمیر مقدار کمتری از آن به آمونیاک تبدیل شده است. میزان pH سیلاژهای آزمایشی در دامنه مطلوب برای یک تخمیر مطلوب قرار داشت (Faithfull, 2000) و با افزایش سطح کاه گندم در سیلاژهای مخلوط افزایش نشان داد، که احتمالاً به‌دلیل کاهش محتوای کربوهیدرات‌های غیرفیبری و پروتئین خام در سیلاژ باشد.

فراسنجه‌های تولید گاز، تخمیر و گوارش‌پذیری مواد مغذی

براساس نتایج جدول ۳، با افزایش نسبت کاه گندم به برگ پالونیا در سیلاژ، تولید گاز در همه زمان‌های مورد بررسی شامل ۱۶، ۲۴، ۴۸، ۷۲، ۹۶ و ۱۲۰ ساعته (کل گاز تولیدی) و نیز پتانسیل تولید گاز (ضریب b) به‌طور خطی کاهش یافت ($P<0/05$). این در حالی است که نرخ تولید گاز (ضریب c) تحت تأثیر سیلاژهای آزمایشی قرار نگرفت ($P>0/05$).

کاهش حجم گاز تولیدی در همه زمان‌های انکوباسیون با افزایش نسبت کاه گندم به برگ پالونیا در سیلاژ احتمالاً به‌دلیل کاهش غلظت پروتئین خام و کربوهیدرات‌های غیرفیبری و افزایش محتوای فیبر (شامل الیاف نامحلول در شوینده خنثی، الیاف نامحلول در شوینده اسیدی) و لیگنین در سیلاژهای آزمایشی بوده است، زیرا یک رابطه معکوس بین ترکیباتی مانند پروتئین خام، الیاف نامحلول در شوینده خنثی و به‌ویژه لیگنین با تولید گاز وجود دارد (Van Soest, 1994). وجود همبستگی منفی بین تولید گاز و میزان دیواره سلولی احتمالاً به‌دلیل کاهش فعالیت میکروبی در طول زمان انکوباسیون باشد. کاهش سنتز پروتئین میکروبی با افزایش نسبت کاه گندم به برگ پالونیا در سیلاژ (جدول ۴) تأییدکننده این نتایج است.

جدول ۳- فراسنجه‌های تولید گاز آزمایشگاهی (میلی‌لیتر به‌ازای ۲۵۰ میلی‌گرم سوبسترا یا واحد ذکرشده) سیلاژهای حاوی نسبت‌های مختلف برگ پالونیا و کاه گندم

Table 3- *In vitro* gas production parameters (ml/250 mg substrate or as stated) of silages containing different proportion of *Paulownia* leaf (PL) and wheat straw (WS)

	سطح کاه گندم به‌جای سیلاژ پالونیا (درصد ماده خشک) Level of WS instead of PL (% DM)					خطای استاندارد	مقایسات متعامد Contrast	
صفت Parameter	کنترل (فقط پالونیا) Control (only PL)	۶ 6	۱۲ 12	۱۸ 18	۲۴ 24	میانگین‌ها SEM	خطی Linear	غیر خطی Quadratic
تولید گاز ۱۶ ساعته Gas producion at 16 h	29.1[a]	26.2[b]	25.5[b]	24.8[b]	23.6[b]	0.917	<0.01	0.35
تولید گاز ۲۴ ساعته Gas producion at 24 h	42.6[a]	41.3[ab]	40.3[ab]	39.8[ab]	37.8[b]	1.18	<0.01	0.85
تولید گاز ۴۸ ساعته Gas producion at 48 h	56.3[a]	52.8[b]	52.1[c]	51.1[bc]	48.4[c]	0.967	<0.01	0.70
تولید گاز ۷۲ ساعته Gas producion at 72 h	60.8[a]	59.1[ab]	58.3[ab]	56.8[b]	55.5[b]	1.16	<0.01	0.95
تولید گاز ۹۶ ساعته Gas producion at 96 h	61.3[a]	59.3[ab]	58.5[abc]	58.1[bc]	55.6[c]	0.965	<0.01	0.89
کل گاز تولیدی ۱۲۰ ساعته Total gas production (120 h)	62.1[a]	59.5[ab]	59.2[ab]	58.8[ab]	56.1[b]	1.07	<0.01	0.92
پتانسیل تولید گاز (b) Gas production potential	63.7[a]	61.5[a]	59.9[ab]	59.8[ab]	56.8[b]	1.35	<0.01	0.95
نرخ تولید گاز (c؛ درصد در ساعت) Rate of gas production (c; %/h)	0.033	0.032	0.031	0.03	0.03	0.002	0.21	0.55

– اعداد با حروف متفاوت در هر ردیف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح پنج درصد می‌باشند.

- Means with different letters in a row differ (P<0.05).

نتایج مربوط به فراسنجه‌های تخمیر و گوارش‌پذیری برون‌تنی سیلاژهای آزمایشی در جدول ۴ ارائه شده است. با افزایش نسبت کاه گندم به برگ پالونیا در سیلاژ، غلظت اسیدهای چرب فرار کوتاه‌زنجیر، گوارش‌پذیری ماده خشک و ماده آلی، تخمین انرژی قابل متابولیسم، نیتروژن آمونیاکی محیط کشت و سنتز پروتئین میکروبی به‌طور خطی کاهش یافت (P<۰/۰۵)، هرچند که میزان pH محیط کشت تحت تأثیر سیلاژهای آزمایشی قرار نگرفت. دلیل کاهش تولید عمده پارامترهای تخمیر و گوارش‌پذیری مورد بررسی در مطالعه حاضر با افزایش سطح کاه در سیلاژ احتمالاً به‌دلیل کاهش ارزش غذایی سیلاژ (کاهش محتوای پروتئین خام و کربوهیدرات‌های غیرفیبری و افزایش محتوای فیبر و لیگنین) بوده است (جدول ۲). با انکوباسیون همه سیلاژهای آزمایشی، غلظت نیتروژن آمونیاکی محیط کشت در زمان ۲۴ ساعت انکوباسیون بیشتر از حداقل مقدار مورد نیاز آن (پنج میلی‌گرم در دسی‌لیتر) جهت رشد بهینه میکروبی بود.

دلیل کاهش غلظت نیتروژن آمونیاکی محیط کشت با افزایش نسبت کاه به برگ پالونیا در سیلاژ ممکن است به علت غلظت پروتئین خام کمتر کاه گندم بوده باشد و در حقیقت، پروتئین کمتری در فرآیند تجزیه و آمین‌زدایی وارد شده است. میزان پروتئولیز شکمبه‌ای کمتر (جدول ۵) نیز می‌تواند توجیه‌کننده این نتایج باشد. خصوصیات پروتئینی کاه گندم و برگ پالونیا و مقاومت آن‌ها در برابر پروتئولیز شکمبه‌ای هم ممکن است در این زمینه اثر داشته باشد. برگ پالونیا دارای مقادیر قابل توجهی ترکیبات فنولی است که ممکن است با کند کردن روند تجزیه‌پذیری پروتئین در شکمبه، از طریق تبدیل آمونیاک به پروتئین میکروبی سبب کاهش غلظت آن در مایع شکمبه شود، امّا در مطالعه حاضر به‌دلیل محتوای پروتئین خام مطلوب همه سیلاژها، با افزایش نسبت کاه به برگ پالونیا در سیلاژ، احتمالاً تجزیه زیاد پروتئین توسط ریزجانداران پروتئولیتیک شکمبه، مانع از دیده شدن اثرات مثبت ترکیبات فنولی شده است. کاهش سنتز پروتئین میکروبی با افزایش میزان کاه در سیلاژ ممکن است به‌دلیل کاهش سطح آمونیاک تولیدی در شکمبه بوده باشد، زیرا ارتباط مثبتی بین غلظت آمونیاک شکمبه و سنتز توده میکروبی گزارش شده است (Azizi-Shotorkhoft *et al.*, 2013). کاهش تخمین انرژی قابل متابولیسم سیلاژهای آزمایشی با افزایش سطح کاه به برگ پالونیا در سیلاژ احتمالاً به‌دلیل کاهش گوارش‌پذیری ماده آلی می‌باشد.

محتوای انرژی قابل متابولیسم به‌دست‌آمده در پژوهش حاضر کمتر از نتایج به‌دست‌آمده (۱۰/۸ مگاژول در کیلوگرم ماده خشک) توسط سایر محققان بود (Özelçam *et al.*, 2012).

جدول ٤– فراسنجه‌های تخمیر و گوارش‌پذیری آزمایشگاهی مواد مغذی سیلاژهای حاوی نسبت‌های مختلف برگ پالونیا و کاه گندم

Table 4- Fermentation parameters and *in vitro* nutrient digestibility of silages containing different proportion of *Paulownia* leaf (PL) and wheat straw (WS)

صفت Parameter	سطح کاه گندم به‌جای سیلاژ پالونیا (درصد ماده خشک) Level of WS instead of PL (% DM)					خطای استاندارد میانگین‌ها SEM	مقایسات متعامد Contrast	
	کنترل (فقط پالونیا) Control (only PL)	۶ 6	۱۲ 12	۱۸ 18	۲۴ 24		خطی Linear	غیر خطی Quadratic
اسیدهای چرب فرار کوتاه‌زنجیر (میلی‌مول در گرم ماده خشک) Short chain fatty acids (mmol/g DM)	3.76[a]	3.65[ab]	3.56[ab]	3.51[ab]	3.33[b]	0.105	<0.01	0.56
گوارش‌پذیری ماده خشک (٪) Dry matter digestibility (%)	58.4[a]	57.3[ab]	56.2[ab]	55.8[b]	55.2[b]	0.801	<0.01	0.56
گوارش‌پذیری ماده آلی (٪) Organic matter digestibility (%)	59.5[a]	57.2[ab]	56.1[bc]	55.4[bc]	53.6[c]	0.844	<0.01	0.65
انرژی قابل متابولیسم (مگاژول در کیلوگرم ماده خشک) Metabolisable energy (MJ/kg DM)	7.79[a]	7.61[ab]	7.46[abc]	7.37[bc]	7.11[c]	0.129	<0.01	0.85
pH	6.34	6.40	6.49	6.59	6.62	0.139	0.10	0.67
نیتروژن آمونیاکی (میلی‌گرم در دسی‌لیتر Ammonia-N (mg/dl)	16.8[a]	14.9[ab]	13.9[ab]	13.2[b]	12.4[b]	0.943	<0.01	0.75
پروتئین میکروبی (میلی‌گرم در گرم ماده خشک) Microbial protein (mg/g DM)	233[a]	225[a]	217[ab]	223[a]	201[b]	5.01	<0.01	0.51

– اعداد با حروف متفاوت در هر ردیف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح پنج درصد می‌باشند.

- Means with different letters in a row differ (P<0.05).

فعالیت آنزیم‌های میکروبی محیط کشت

نتایج مربوط به فعالیت آنزیم‌های میکروبی محیط کشت با انکوباسیون سیلاژهای آزمایشی در جدول ۵ ارائه شده است. با افزایش نسبت کاه به برگ پالونیا در سیلاژ، فعالیت آنزیم‌های کربوکسی متیل سلولاز، فعالیت تجزیه کاغذ صافی، آلفا آمیلاز و فعالیت پروتئازی محیط کشت در زمان ۲۴ ساعت انکوباسیون به‌طور خطی کاهش یافت (P<۰/۰۵)، هرچند که فعالیت آنزیم‌های میکروکریستالین سلولاز تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت (P>۰/۰۵). فعالیت کمپلکس‌های آنزیمی شکمبه به‌طور غیرمستقیم نشان‌دهنده جمعیت میکروب‌های دخیل در تخمیر و تجزیه مواد خوراکی است (Raghuvansi *et al.*, 2007). به‌طور معمول، فعالیت هر آنزیم یا کمپلکس آنزیمی ارتباط مستقیم و مثبتی با میزان سوبسترای آن آنزیم دارد.

جدول ۵– فعالیت آنزیم‌های هیدرولیتیک شکمبه (واحد در ساعت در میلی‌لیتر یا واحد ذکرشده) سیلاژهای حاوی نسبت‌های مختلف برگ پالونیا و کاه گندم

Table 5- Rumen activity of hydrolytic enzymes (U/h/ml or as stated) of silages containing different proportion of *Paulownia* leaf (PL) and wheat straw (WS)

	سطح کاه گندم به‌جای سیلاژ پالونیا (درصد ماده خشک) Level of WS instead of PL (% DM)					خطای استاندارد	مقایسات متعامد Contrast	
صفت Parameter	کنترل (فقط پالونیا) Control (only PL)	۶ 6	۱۲ 12	۱۸ 18	۲۴ 24	میانگین‌ها SEM	خطی Linear	غیر خطی Quadratic
کربوکسی متیل سلولاز Carboxymethyl cellulase	16.7[a]	15.2[a]	16.1[a]	15.2[a]	13.1[b]	0.625	<0.01	0.75
میکروکریستالین سلواز Microcrystalline cellulase	11.7	10.9	10.6	10.8	10.6	1.01	0.23	0.49
فعالیت تجزیه کاغذ صافی Filter paper degrading	30.7[a]	27.1[ab]	26.2[ab]	25.6[b]	23.2[b]	1.47	<0.01	0.63
آلفا آمیلاز α-amylase	37.4[a]	35.6[ab]	34.1[ab]	32.9[ab]	31.6[b]	1.55	0.01	0.76
پروتئاز (میکروگرم پروتئین هیدرولیز شده در ساعت) Protease	86.1[a]	79.4[ab]	77.4[ab]	76.8[ab]	68.3[b]	3.43	<0.01	0.78

– اعداد با حروف متفاوت در هر ردیف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح پنج درصد می‌باشند.

- Means with different letters in a row differ (P<0.05).

در مطالعه حاضر، کاهش فعالیت عمده آنزیم‌های شاخص تجزیه‌کننده فیبر (شامل کربوکسی متیل سلولاز و فعالیت تجزیه کاغذ صافی) با افزایش نسبت کاه به برگ پالونیا در سیلاژ در شرایطی اتفاق افتاده است که محتوای الیاف نامحلول در شوینده خنثی و الیاف نامحلول در شوینده اسیدی سیلاژها به‌طور خطی افزایش یافته است (وجود سوبسترای فیبری بیشتر). دلیل این امر می‌تواند افزایش محتوای لیگنین با افزایش سطح کاه در سیلاژ بوده باشد که مانع از هضم و تجزیه زیاد دیواره سلولی و به‌تبع جلوگیری از افزایش فعالیت آنزیم‌های تجزیه‌کننده فیبر شده است، زیرا رابطه معکوسی بین میزان لیگنین و تخمیر و هضم‌پذیری علوفه‌ها گزارش شده است (Van Soest, 1994). گوارش‌پذیری شکمبه‌ای ماده آلی (جدول ۴) تأییدکننده این نتایج است. کاهش فعالیت آنزیم‌های آلفا آمیلاز محیط کشت با افزایش سطح کاه به برگ پالونیا در سیلاژ احتمالاً به‌دلیل فراهمی کمتر کربوهیدرات‌های غیرفیبری و افزایش فعالیت پروتئازی محیط کشت به‌دلیل دسترسی بیشتر به سوبستراهای پروتئینی در سیلاژ بوده است (جدول ۲).

نتیجه‌گیری کلی

به‌طور کلی نتایج مطالعه حاضر نشان داد که برگ پالونیا رقم اصلاح‌شده طب جو از ارزش غذایی قابل توجهی به‌عنوان یک منبع علوفه‌ای جدید در تغذیه نشخوارکنندگان برخوردار است. علاوه‌بر این، امکان تولید سیلاژهای آزمایشی با مخلوط کردن سطوح مختلف کاه گندم تا سطح ۲۴ درصد ماده خشک مخلوط سیلاژ در شرایط برون‌تنی وجود دارد و سیلاژهای حاصل دارای ارزش غذایی قابل قبولی می‌باشند. به هر حال، برای تهیه سیلاژهای مخلوط در شرایط مزرعه، میزان کاه مورد استفاده باید براساس درصد ماده خشک سیلاژ مخلوط نهایی تنظیم گردد تا با مشکل تخلیه هوا مواجه نشود. انجام مطالعات بیشتر به‌ویژه روی دام زنده جهت تأیید یافته‌های پژوهش حاضر ضروری به نظر می‌رسد.

سپاسگزاری

از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه لرستان به‌جهت هماهنگی‌ها و کمک شایان جهت انجام پژوهش حاضر، تشکر و قدردانی به عمل می‌آید.

References

1. Agarwal, N. (2000). Estimation of fiber degrading enzyme. In: L. C. Chaudhary, N. Agarwal, D. N. Kamra, D. K. Agarwal, (Eds). Feed microbiology. Izatnagar (India): CAS Animal Nutrition, 278–291.
2. Al-Sagheer, A. A., Abd El-Hack, M. A., Alagawany, M., Naiel, M. A., Mahgoub, S. A., Badr, M. M., Hussein, E. O. S., Alowaimer, A. N., & Swelum, A. A. (2019). Paulownia leaves as a new feed resource: chemical

composition and effects on growth, carcasses, digestibility, blood biochemistry, and intestinal bacterial populations of growing rabbits. *Animals*, *9*, 95. https://doi.org/10.3390/ani9030095
3. ANKOM. (2018). ANKOM Gas Production System Operator’s Manual; ANKOM Technology: Macedon, NY, USA.
4. AOAC. (2002). Official Methods of Analysis of AOAC International (17th Ed., 1th rev.). Gaithersburg (MD): Association of Official Analytical Chemists.
5. Arora, J. K., Kakkar, V. K., Sukhvir, K., & Kaur, S. (1994). Bioconversion of agro residues for food and feed. *Agricultural Revolution Karnal*, *15*, 3-4. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0273916
6. Azizi, A. (2024). Chemical composition, digestibility and *in vitro* fermentation variables of mixed silage from different levels of *Paulownia* leaves and forage corn. *Iranian Journal of Animal Science Research*, *16*(2), 157-170. (in Persian with English abstract). https://doi.org/10.22067/ijasr.2023.83509.1161
7. Azizi-Shotorkhoft, A., Rezaei, J., & Fazaeli, H. (2013). The effect of different levels of molasses on the digestibility, rumen parameters and blood metabolites in sheep fed processed broiler litter. *Animal Feed Science and Technology*, *179*, 69–76. https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2012.12.001
8. Blümmel, M., Karsli, A., & Russell J. R. (2003). Influence of diet on growth yields of rumen micro-organisms *in vitro* and *in vivo*: Influence on growth yield of variable carbon fluxes to fermentation products. *British Journal of Nutrition*, *90*, 625–634. https://doi.org/10.1079/bjn2003934
9. Blümmel, M., Steingss, H., & Becker, K. (1997). The relationship between *in vitro* gas production, *in vitro* microbial biomass yield and ^{15}N incorporation and its implications for the prediction of voluntary feed intake of roughages. *British Journal of Nutrition*, *77*, 911–921. https://doi.org/10.1079/BJN19970089
10. Bodnar, A., Pajor, F., Steier, J., Kispal, T., & Poti, P. (2014). Nutritive value of paulownia (*Paulownia* spp.) hybrid tree leaves. *Hungarian Agricultural Research*, *23*, 27–32. https://doi.org/10.3390/ani9030095
11. Broderick, G., & Kang, J. H. (1980). Automated simultaneous determination of ammonia and total amino acids in ruminal fluid and in vitro media. *Journal of Dairy Science*, *63*, 64-75. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(80)82888-8
12. Descals, P., Seradj, A., Villorbina, G., & Balcells, J. (2013). Estudiodel valor nutritio de la hoja de Paulownia como recursoforrajero. AIDA, XV Jornadas sobre Producciyn Animal, TomoI, pp. 240-242 (E).
13. Faithfull, N. T. (2000). Methods in Agricultural Chemical Analysis; A Practical Handbook. Cab Int., Wallingford, UK.
14. García-Morote, F. A., L´opez-Serrano, F. R., Martínez-García, E., Andr´es-Abell´an, M., Dadi, T., Candel, D., Rubio, E., & Lucas-Borja, M. E. (2014). Stem biomass production of *Paulownia elongata* × *P. fortunei* under low irrigation in a semi-arid environment. *Forests*, *5*, 2505–2520. https://doi.org/10.3390/f5102505
15. Getachew, G., Makkar, H. P. S., & Becker, K. (2002). Tropical browses: Contents of phenolic compounds, *in vitro* gas production and stoichiometric relationshipbetween short chain fatty acid and *in vitro* gas production. *Journal of Agricultural Science*, *139*, 341–352. https://doi.org/10.1017/S0021859602002393
16. Huang, H., Lechniak, D., Szumacher-Strabel, M., Patra, A. K., Kozłowska, M., Kolodziejski, P., Gao, M., Ślusarczyk, S., Petrič, D., & Cieslak, A. (2022). The effect of ensiled paulownia leaves in a high-forage diet on ruminal fermentation, methane production, fatty acid composition, and milk production performance of dairy cows. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, *13*, 104. https://doi.org/10.1186/s40104-022-00745-9
17. Huang, H., Szumacher-Strabel, M., Patra, A. K., ´Slusarczyk, S., Lechniak, D., Vazirigohar, M., Varadyova, Z., Kozłowska, M., & Cie´slak, A. (2021). Chemical and phytochemical composition, *in vitro* ruminal fermentation, methane production, and nutrient degradability of fresh and ensiled Paulownia hybrid leaves. *Animal Feed Science and Technology*, *279*, 115038. https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2021.115038
18. Icka, P., Damo, R., & Icka, E. (2016). Paulownia tomentosa, a fast growing timber. *Annals Valahia University of Targoviste Agriculture*, *10*, 14–9. https:// doi. org/10.1515/agr-2016-0003
19. Kaiser, A. G., Piltz, J. W., Burn, H. M., & Grinffiths, N. W. (2004). Successful Silage, 2nd ed. Dairy Australia and NSW Dept. of Primary Industries, New South Wales, Australia.
20. Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L., & Randall, R. J. (1951). Protein measurement with the folin-phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry*, *193*, 262–275. https://doi.org/10.1016/S0021-9258(19)52451-6
21. Marten, G. C., & Barnes, R. F. (1980). Prediction of energy digestibility of forages within vitro rumen fermentation and fungal enzymes systems. In: W. J. Pidgen, C. C. Balch, & M. Graham (Eds). Standardization of Analytical Methodology for Feeds. International Development Research Center, Ottawa, pp. 61-71.
22. McDonald, P., Edwards, R. A., Greenhalgh, J. F. D., Morgan, C. A., Sinclair, L. A., & Wilkinson, R. G. (2011). Animal Nutrition. 5th Ed. Prentice Hall, Essex, UK.
23. Menke, K. H., & Steingass, H. (1988). Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and gas production using rumen fluid. *Animal Research and Development*, *28*, 7–55.
24. Mertens, D. R. (2002). Gravimetric determination of amylase-treated neutral detergent fiber in feeds using refluxing in beakers or crucibles; collaborative study. *Journal AOAC International*, *85*, 1217-1240.
25. Miller, J. L. (1959). Modified DNS method for reducing sugars. *Analytical Chemistry*, *31*, 426–429.

26. Norton, B. W. (1998). The nutritive value of tree legumes. In: R. C. Gutteridge & H. M. Sheton (Eds). Forage Tree Legumes in Tropical Agriculture. Tropical Grassland Society Aus. Inc., St Lucia. Queensland, Australia, pp. 15-48.
27. NRC. (2007). National Research Council, Nutrient requirements of small ruminants: Sheep, Goats, Cervids, and New World Camelids. Washington (DC, USA): National Academy of Sciences.
28. Özelçam, H., İpçak, H. H., Özüretmen, S., & Canbolat, Ö. (2012). Feed value of dried and ensiled paulownia (*Paulownia* spp.) leaves and their relationship to rumen fermentation, *in vitro* digestibility, and gas production characteristics. *Revista Brasileiro de Zootecnia*, *50*, e20210057. https://doi.org/10.37496/rbz5020210057
29. Raghuvansi, S. K. S., Prasad, R., Tripathi, M. K., & Mishra, A. S. (2007). Effect of complete feed blocks or grazing and supplementation of lambs on performance, nutrient utilization, and rumen fermentation and rumen microbial enzymes. *Animal*, *1*, 221-226. https://doi.org/10.1017/S1751731107284058
30. Rezaei., J., Rouzbehan, Y., & Fazaeli, H. (2009). Nutritive value of fresh and ensiled amaranth (*Amaranthus hypochondriacus*) treated with different levels of molasses. *Animal Feed Science and Technology*, *151*, 153-160. https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2008.12.001
31. SAS Institute Inc. (2005). User's Guide: Statistics, Version 9.0 Edition. SAS Inst. Inc., Cary, NC.
32. Stewart, M., Vaidya, B., Mahapatra, A., Terrill, T., & Joshee, N. (2018). Potential use of multipurpose *Paulownia elongata* tree as an animal feed resource. *American Journal of Plant Sciences*, *9*, 1212-1227. https://doi.org/10.4236/ajps.2018.96090
33. Van Soest, P. J. (1994). Nutritional Ecology of the Ruminant. 2nd Ed. Cornell Universuty Press, Itacha, NY, USA, pp. 476.
34. Van Soest, P. J., Robertson, J. B., & Lewis, A. (1991). Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and non starch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science*, *74*, 3583–3597. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(91)78551-2
35. Vercoe, P. E., Makkar, H. P. S., & Schlink, A. C. (2010). *In vitro* screening of plant resources for extra-nutritionalattributes in ruminants: nuclear and related methodologies (2th Ed.). Springer Verlag Gmbh.
36. Yadav, N. K., Vaidya, B. N., Henderson, K., Lee, J. F., Stewart, W. M., Dhekney, S. A., & Joshee, N. (2013). A review of *Paulownia* biotechnology: A short rotation, fast growing multipurpose bioenergy tree. *American Journal of Plant Science*, *4*, 2070. https://doi.org/10.4236/ajps.2013.411259